

Идентификация неизвестного компонента экстракта волос эксгумированных человеческих останков по масс-спектрометрическим и газохроматографическим данным

С.А. Савчук¹, *И.Г. Зенкевич²

¹Российский центр судебно-медицинской экспертизы Минздрава России,
ул. Поликарпова, 12/13, Москва 125284, Российская Федерация

²Санкт-Петербургский государственный университет, Институт химии,
Университетский просп., 26, Санкт-Петербург 198504, Российская Федерация

*Адрес для переписки: Зенкевич Игорь Георгиевич, E-mail: izenkevich@yandex.ru

Поступила в редакцию 17 ноября 2020 г., после исправления – 2 января 2021 г.

Подробно рассмотрен пример хромато-масс-спектрометрической идентификации неизвестного компонента экстракта образца человеческих волос, изъятых у эксгумированных останков. Этот компонент (молекулярная масса 238 Да) не удалось идентифицировать ни в результате библиотечного поиска по стандартному масс-спектру (ионизация электронами), ни по значению газохроматографического индекса удерживания (~1540) на стандартных неполярных полидиметилсилоксановых неподвижных фазах с 5% фенильных групп. Однако его идентификация оказалась возможной с использованием оригинального алгоритма, основанного на выявлении структурных аналогов неизвестных аналитов, прежде всего – их гомологов, различающихся по молекулярным массам на ± 14 Да, а по составу – на гомологическую разность CH_2 . Этот прием позволил выявить такие аналоги неизвестного соединения как флавесон (2,2,4,4-тетраметил-6-изобутирилциклогекса-1,3,5-трион), лептоспермон (2,2,4,4-тетраметил-6-изопентаноилциклогекса-1,3,5-трион) и ряд других, относящихся к такому достаточно «экзотическому» классу природных соединений как циклические β -трикетоны. На основании полученных данных установлена наиболее вероятная структура «неизвестного» компонента – 2,2,4,4-тетраметил-6-пропионилциклогекса-1,3,5-трион. Отличительной особенностью циклических β -трикетонов является существование в виде нескольких таутомерных форм. В рассматриваемом случае это структура 5-гидрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-пропионилциклогекса-4-ен-1,3-диона (CAS № 87552-01-0). Обсуждаемое соединение является компонентом эфирного масла *Leptospermum scoparium* и некоторых других растений и входит в группу структурных аналогов флавесона. Наиболее известное фармацевтическое применение эфирных масел, содержащих соединения этой группы, – компоненты кондиционеров для волос и кожи головы. Таким образом, установлено, что рассматриваемый компонент не относится к сильнодействующим или токсичным соединениям, что исключает криминальное происхождение останков.

Ключевые слова: Экстракт человеческих волос, неизвестный компонент, хромато-масс-спектрометрия, идентификация, 2,2,4,4-тетраметил-6-пропионилциклогексан-1,3,5-трион.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2021, vol. 25, no. 1, pp. 34-42

DOI: 10.15826/analitika.2021.25.1.002

Identification of unknown compound extracted from the hair of exhumed human remains using mass spectrometric and gas chromatographic data

Sergei A. Savchuk¹, *Igor G. Zenkevich²

¹Russian center of forensic expertise, Russian Ministry of Health,
Polikarpova str., 12/13, Moscow 125284, Russian Federation

²St. Petersburg State University, Institute for Chemistry,
Universitetskii prosp., 26, St. Petersburg, 198504, Russian Federation

*Corresponding author: Igor G. Zenkevich, E-mail: izenkevich@yandex.ru

Submitted 20 November 2020, in revised form – 2 January 2021

The real example of GC-MS identification of unknown constituent of human hair extract belonging to the exhumed remains is considered. The identification of this constituent (molecular weight 238 Da) was unsuccessful using both its standard mass spectrum (electron ionization) in combination with library search, and its GC retention index value (~1540 on semi-standard non-polar polydimethyl siloxane stationary phases with 5% phenyl groups). However, its identification appeared to be possible using the original algorithm of data processing. This approach implies revealing the structural analogues of unknown analytes, primarily their homologues which differ by molecular masses on ± 14 Da and by composition on CH_2 homologous difference. This approach allowed revealing such analogues of unknown analyte as Flavesone (2,2,4,4-tetramethyl-6-isobutyrylcyclohexa-1,3,5-trione), Leptospermone (2,2,4,4-tetramethyl-6-isopentanoylcyclohexa-1,3,5-trione), and some others. All these compounds belong to a rather "exotic" class of natural compounds known as cyclic β -triketones. Based on the obtained data, the possible structure of the constituent under the consideration was proposed as 2,2,4,4-tetramethyl-6-propionylcyclohexa-1,3,5-trione. The principal feature of cyclic β -triketones is their existence in a few tautomeric forms. Another tautomer of triketone under discussion is 5-hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-4-propionyl-4-en-1,3-dione (CAS № 87552-01-0). This compound is found to be the constituent of *Leptospermum scoparium* essential oil and some other plants, and it belongs to the group of structural analogues of Flavesone. The most known pharmaceutical application of essential oils containing these compounds are the components of conditioners for hair and skin. The results confirm this formerly unknown component does not belong to the group of toxic substances. This excludes the criminal origin of the remains.

Keywords: Human hair extract, unknown constituent, gas chromatography – mass spectrometry, identification, 2,2,4,4-tetramethyl-6-propionylcyclohexa-1,3,5-trione.

ВВЕДЕНИЕ

По современным представлениям первой (а часто и единственной) стадией хромато-масс-спектрометрической идентификации компонентов сложных образцов считают сравнение масс-спектров аналитов со справочными данными (библиотечный поиск) [1]. Реализацию такого подхода обеспечивает существование хорошо организованных и подробных баз данных. Так, например, версия 2020 г. базы Национального института стандартов и технологии (NIST, США) содержит более 350 тыс. стандартных масс-спектров (с ионизацией электронами – ИЭ) более 306 тыс. соединений [2]. С 2005 г. эта база дополнена газохроматографическими индексами удерживания (RI) на стандартных неполярных и полярных фазах, число которых в версии 2020 г. превысило 447 тыс. (более 111 тыс. соединений). Однако совпадение экспериментальных и справочных масс-спектров не всегда можно считать достаточным критерием правильности идентификации, примером чему служит публикация в современных литературных источниках большого числа явно неверных ответов [3]. Это заставляет обращаться к дополнительным критериям идентификации (данные масс-спектрометрии высокого разрешения, MS-MS, доколониальных фазовых равновесий и др.) [4] или ранжировать результаты библиотечного поиска [1]. Среди дополнительных критериев особая роль принадлежит индексам удерживания (в общем случае – параметрам удерживания, в том числе последовательностям элюирования), так как их определение часто не требует отдельных экспериментов и возможно одновременно с регистрацией масс-спектров. Существует вариант хромато-масс-спектрометрической идентификации, который применяют относительно редко. Если неизвестное соединение

не удается идентифицировать непосредственно по его масс-спектру и значению RI, то в качестве следующей стадии интерпретации данных целесообразно выбрать выявление в используемых базах данных его структурных аналогов, обладающих сходными масс-спектрометрическими и хроматографическими характеристиками. В число таких объектов входят, прежде всего, гомологи неизвестного аналита, отличающихся от него по молекулярной массе на ± 14 Da и по составу на гомологическую разность CH_2 . Подобный способ повышения эффективности и надежности идентификации рассмотрен в сообщении [5] и в публикации, посвященной особенностям дифференциальных аналитических параметров [6]. Однако для более наглядной иллюстрации новизны такого подхода желательно подробнее прокомментировать не его общий дизайн, а проиллюстрировать его возможности конкретным примером.

В ходе судебно-медицинского исследования образца экстракта человеческих волос, (отобран у эксгумированных останков) методом хромато-масс-спектрометрии на присутствие токсичных и/или сильнодействующих веществ, наряду с другими, был обнаружен компонент, который не удалось идентифицировать по масс-спектру. Настоящая работа посвящена рассмотрению новых вариантов библиотечного поиска с использованием базы [2] (версия 2017 г.), в том числе с привлечением газохроматографических индексов удерживания, эффективных для идентификации этого компонента.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Образцы и их подготовка к анализу. Образец человеческих волос взвешивали, удаляли поверхностные загрязнения обработкой метанолом (орбитальный шейкер) в течение 5 мин. Целевые компоненты также

извлекали метанолом при обработке ультразвуком в течение 5 часов при комнатной температуре; полученный экстракт непосредственно дозировали в хроматографическую колонку.

Хромато-масс-спектрометрический анализ экстрактов выполнен на хроматографе с масс-селективным детектором Agilent 6890/5973N (ионизация электронами) и колонкой HP-5 MS длиной 25 м, внутренним диаметром 0.25 мм и толщиной пленки неподвижной фазы 0.25 мкм в режиме ступенчатого программирования температуры от 50°C (0.5 мин), нагрев 99°C/мин до 100°C (1 мин) и далее нагрев 15°C/мин до 280°C (30 мин). Температура испарителя 200°C, источника ионов 230°C, анализатора 150°C. Газ-носитель гелий, объемная скорость 2 мл/мин. Объем дозируемых проб 1 мкл (без деления потока). Регистрацию сигнала проводили в режиме сканирования по полному ионному току в диапазоне m/z 29-650 Да.

Масс-спектр неизвестного соединения со временем удерживания 8.58 мин ($m/z \geq 41$, $I_{\text{отн}} \geq 2\%$): 239(8.0) [M+1], 238(52.2)M, 237(3), 224(5), 223(36) [M – 15], 211(3), 210(24), 209(100) [M – 29], 197(10), 196(82) [M – 42], 195(22), 194(2), 193(3), 182(2), 181(8), 180(2), 179(5), 177(2), 168(10), 167(95) [M – 71], 166(4), 165(7), 163(2), 154(2), 153(16), 152(4), 151(9), 150(2), 149(2), 140(3), 139(3), 138(4), 137(8), 136(5), 135(3), 126(2), 125(9), 124(6), 123(7), 121(2), 112(3), 111(29), 110(3), 109(6), 108(3), 107(2), 98(2), 97(3), 96(5), 95(4), 94(5), 93(2), 84(4), 82(8), 81(4), 80(5), 79(2), 77(2), 71(3), 70(6), 69(7), 68(18), 67(7), 66(3), 65(2), 58(2), 57(6), 56(8), 55(11), 54(12), 53(7), 52(3), 44(2), 43(14), 42(15), 41(20). Относительная интенсивность изотопного пика [M+1] 15.2%. В графическом виде масс-спектр приведен на рис. 1.

Для определения газохроматографического индекса удерживания RI неизвестного соединения использовали не набор реперных *n*-алканов, а

справочные значения RI других соединений, которые разделяли в таком же режиме программирования температуры (см. табл. 1 далее).

Статистическую обработку данных проводили с использованием ПО Origin (версии 4.1 и 8.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

«Традиционные» приемы масс-спектрометрической идентификации. Прямое сравнение главных пиков масс-спектра неизвестного компонента «X» с m/z ($I_{\text{отн}}$) 238(52), 223(36), 210(24), 209(100), 196(82) и 167(95) с базой [2] не позволяет выявить ни одного варианта его интерпретации. Более того, такие же «нулевые» результаты получены при использовании сочетаний меньшего числа пиков с m/z 238, 209 и 196; 238, 209 и 167; 209, 196 и 167. Выбор сочетания двух пиков с m/z 209 (диапазон интенсивностей при поиске 90-100%) и m/z 196 (79-90%) приводит всего к двум ответам, не согласующимся с предполагаемой молекулярной массой соединения «X», $M = 238$ Да. Поиск по значению $M = 238$ Да в диапазоне $I_{\text{отн}}$ 40-60% приводит к 448 ответам, а по максимальному сигналу спектра с m/z 209 (в диапазоне $I_{\text{отн}}$ 90-100%) – к 1093 ответам. Из этого следует, что масс-спектр соединения «X» уникален и не представлен в базе [2]. Отсутствие результатов поиска по сокращенным наборам сигналов масс-спектра, кроме того, позволяет заключить, что эта база не содержит достаточного количества сведений о структурных аналогах рассматриваемого соединения, т.е. оно не только само не представлено в базе, но и относится к классу веществ, недостаточно подробно охарактеризованному до настоящего времени. Это фактически исключает необходимость более детального анализа масс-спектра, а указывает на

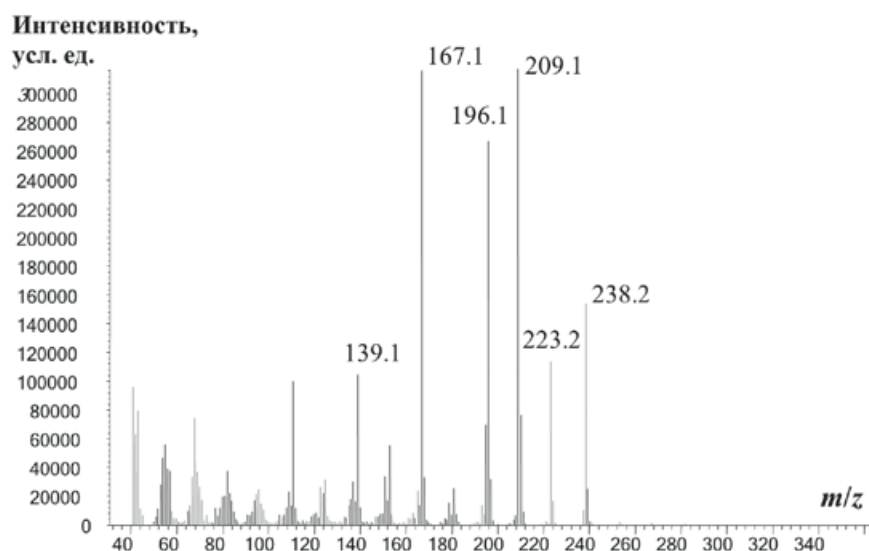


Рис. 1. Масс-спектр неизвестного соединения «X».

Fig. 1. Mass spectrum of unknown compound «X».

целесообразность его совместного рассмотрения с газохроматографическим индексом удерживания RI.

То, что индекс удерживания не был определен в шкале реперных *n*-алканов, не является препятствием его оценки по данным о других соединениях с известными справочными значениями RI, разделяемыми в таких же условиях. Иными словами, их можно использовать в качестве реперных компонентов вместо *n*-алканов. Аналогичный прием был использован, например, при идентификации продуктов превращения 1,1-диметилгидразина при контакте с серосодержащими почвами [7]. В данном же случае в качестве таких реперов были выбраны никотин, эфедрин, дифениламин и кофеин, причем первые

Таблица 1

Времена удерживания и справочные значения индексов удерживания нескольких соединений, использованных для вычисления индекса удерживания соединения «X»

Table 1

Net retention times and reference RI values for some organic compounds used for calculating the retention index of compound «X»

Соединение	Мол. масса, Да	Время удерживания, мин	Справочное значение RI [2]
Никотин	162	6.76	1323 ± 13*
Эфедрин	165	7.28	1352 ± 6
Компонент «X»	238	8.86	-
Дифениламин	169	9.20	1590 ± 12
Кофеин	194	11.10	1800 ± 11

Примечания: * – экспериментальное значение RI никотина отсутствует в базе [2]; использован массив справочных данных одного из авторов (И.З.).

два компонента элюируются из колонки до соединения «X», а два остальных – после него (табл. 1).

Для вычисления линейно-логарифмических индексов удерживания, применимых в любых температурных режимах газохроматографического разделения, необходимы значения t_R и RI трех реперных компонентов. Использование разных сочетаний данных для четырех реперных соединений (табл. 1) с последующим усреднением результатов дает для соединения «X» оценку RI » 1540 ± 8. Важно отметить, что стандартное отклонение полученного значения (±8 ед. индекса) сравнимо (не может быть значительно меньше) со средним значением стандартных отклонений индексов выбранных реперов (±10). Для получения подобных оценок можно использовать данные не только для указанных в табл. 1 реперных, но и для любых других соединений с известными справочными значениями индексов.

Уже на этой стадии рассмотрения данных обращает на себя внимание аномально малое значение индекса удерживания соединения «X» (~1540)

по отношению к его предполагаемой молекулярной массе (238 Да), особенно по сравнению с реперными компонентами (табл. 1). Следовательно, во-первых, оно значительно менее полярно, чем выбранные реперные компоненты. Второй причиной может быть наличие большого числа разветвлений углеродного скелета в молекуле, которые уменьшают значения RI. При таком соотношении величин *M* и RI из дальнейшего рассмотрения можно исключить соединения с активными атомами водорода, например спирты, фенолы, карбоновые кислоты, амиды и многие другие.

Пик с *m/z* 238 не противоречит гипотезе о его принадлежности сигналам молекулярных ионов, так как в масс-спектре присутствуют пики с *m/z* 223 [*M* – 15], 209 [*M* – 29], 196 [*M* – 42] и 167 [*M* – 71] (порядок убывания интенсивностей 209 » 167 > 196 > 238 > 223). Достаточно высокая интенсивность этого сигнала (52%) позволяет определить молекулярную формулу соединения по относительной интенсивности изотопного пика. Для получения ответа на уровне общей для гомологов формулы целесообразно использовать так называемые гомологические инкременты интенсивностей изотопных пиков, $i_{I(M+1)}$ [10]:

$$i_{I(M+1)} = I_{(M+1)} - 1.152x, \quad (1)$$

где $x = \text{int}(M/14)$ – целое частное от деления молекулярного массового числа на 14, эквивалентно записи $M = 14x + y$, 1.152 – инкремент интенсивности изотопного пика [*M*+1] гомологической разности CH₂.

В данном случае $\text{int}(238/14) = 17$ и получаем: $i_{I(M+1)} = 15.2 - 1.152 \times 17 = -4.4$. Ближайшими к этой величине оказываются значения -4.2 для соединений с общими молекулярными формулами C_nH_{2n-10}OS₂, -4.5 для C_nH_{2n-8}O₄ и -4.5 для C_nH_{2n-4}N₄S [10]. Серосодержащие соединения следует исключить из-за отсутствия заметных изотопных пиков [*M*+2], следовательно, наиболее вероятная общая формула C_nH_{2n-8}O₄, что при *M* = 238 Да соответствует составу C₁₃H₁₈O₄.

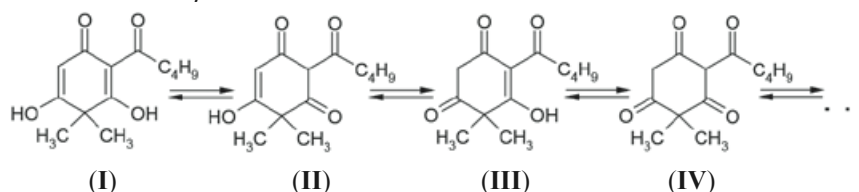
Определение молекулярной формулы дает возможность иного обращения к базе [2]: поиску не по массовым числам главных пиков, а по составу соединения. Это приводит к 55 ответам, из которых только один согласуется с масс-спектром «X» по набору массовых чисел основных пиков, правда, в иной последовательности (223 > 209 > 238 > 196 > 181 [*M* – 57]). Четыре из приведенных значений *m/z* совпадают со значениями для соединения «X». Этим соединением является 3,5-дигидрокси-4,4-диметил-2-пентаноил-2,5-циклогексадиенон (I, CAS № 19051-49-1) – енольная форма природного соединения с тривиальным названием валерилфилициновая кислота (*Valerylphilicic acid*, CAS № 19051-49-1) (II)¹. Четыре таутомерных формы этой кислоты приведены на схеме 1.

¹ Номера CAS здесь и далее приведены для упрощения поиска информации об обсуждаемых соединениях в Интернете.

Четыре таутомерных формы валерилфилциновой кислоты

Scheme 1

Structures of four tautomers of Valeryl filicinic acid



Подобное сходство масс-спектров еще не дает оснований для идентификации компонента «X», но указывает на его уникальную химическую природу: он может принадлежать к такому «экзотическому» классу экстрактивных веществ растений как ацилзамещенные циклогекса-1,3,5-трионы, существующие в нескольких таутомерных формах. Правда, экспериментальное значение RI 3,5-дигидрокси-4,4-диметил-2-пентаноил-2,5-циклогексадиенона (I) неизвестно, а приведенная в базе [2] его оценка по аддитивной схеме [9] ненадежна (равна 1872, что значительно превышает 1540).

Молекулярную формулу $C_{13}H_{18}O_4$ имеет еще одно природное соединение – 2-изобутирил-5-метоксициклогекс-4-ен-1,3-дион (тривиальное название «Агломерон», CAS№ 22595-43-3). Масс-спектр этого соединения отсутствует в базе [2] и его удалось найти только в работе [10]; он характеризуется максимальным пиком с m/z 223, но вместо сигнала с m/z 196 присутствует интенсивный сигнал с m/z 195, а пик молекулярных ионов имеет существенно меньшую интенсивность (около 10%). Кроме того, индекс удерживания агломерона (1669 и 1721 по разным данным) значительно превышает величину $RI(X) = 1540$. Следовательно, такой вариант идентификации также следует отклонить.

Другие попытки идентифицировать соединение «X» по значению RI 1540 в сочетании с молекулярной формулой $C_{13}H_{18}O_4$ не дают приемлемых результатов.

Перечисленные варианты обращения к базе [2] практически исчерпывают все применяемые в настоящее время способы интерпретации масс-спектрометрической информации, но не приводят к получению приемлемого результата идентификации. Однако ответ может быть получен в результате совместного рассмотрения масс-спектрометрических и хроматографических данных, что дает возможность привлечения справочной информации для других соединений, прежде всего – гомологов неизвестного аналита.

Совместное рассмотрение масс-спектрометрических и газохроматографических данных. Как отмечено во ВВЕДЕНИИ, если неизвестное соединение не удастся идентифицировать непосредственно по масс-спектру и значению RI, то в качестве следующей стадии интерпретации данных логично выбрать выявление его структурных аналогов, обладающих сходными масс-спектрометрическими

и хроматографическими признаками, прежде всего – гомологов, отличающихся по молекулярной массе на ± 14 Да и по составу на $\pm CH_2$. Решение подобных задач упрощается при совместной интерпретации масс-спектрометрических и газохроматографических данных, одной из форм которого являются гомологические инкременты индексов удерживания:

$$i_{RI} = RI - 100x, \quad (2)$$

где, как и в формуле (1), $x = \text{int}(M/14)$, int – функция, обозначающая целую часть числа (эквивалентно записи $M = 14x + y_M$), y_M – номер гомологической группы соединения, $y_M = M(\bmod 14)$ [8].

Гомологические индексы удерживания были предложены в середине 1980-х гг. для групповой идентификации органических соединений (отнесения к гомологическим рядам). Однако впоследствии было показано, что значения i_{RI} информативны и для решения более специфических задач, а именно оценки молекулярных масс соединений, в спектрах которых трудно опознать сигналы молекулярных ионов, для определения суммарного числа разветвлений углеродного скелета молекул [11] и других. Еще одним важным применением гомологических инкрементов представляется поиск среди гомологов неизвестных аналитов соединений с такими же значениями i_{RI} , в том числе структурных аналогов.

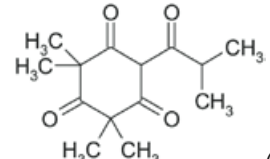
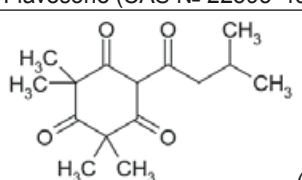
Для соединения «X» ($y_M = 0$, $x = 17$) значение i_{RI} равно $1540 - 100 \times 17 \approx -160$. Следовательно, необходимо проверить массивы справочных данных для гомологов соединения «X» на выполнение условия $i_{RI} \leq -160 \pm 30$, где 30 – четырехкратное среднее значение стандартных отклонений индексов удерживания на неполярных фазах [3]. Условие « \leq » (меньше либо равно) позволяет учесть возможные дополнительные разветвления углеродного скелета молекул структурных аналогов, которые приводят к уменьшению значений RI. С целью сокращения объема обсуждения здесь можно ограничиться всего двумя предыдущими и двумя последующими гомологами аналита с $M = 238$ Да, т.е. $C_{11}H_{14}O_4$ ($M = 210$ Да), $C_{12}H_{16}O_4$ ($M = 224$ Да), $C_{14}H_{20}O_4$ ($M = 252$ Да) и $C_{15}H_{22}O_4$ ($M = 266$ Да). Из дополнительных «химических» условий необходимо отметить, что представители некоторых классов органических соединений, удовлетворяющие условию $i_{RI} \leq -160 \pm 30$, например, производные адамантана и полие-

Таблица 2

Результаты поиска структурных аналогов соединения «X» ($M = 238$ Да) в базе [2] по условию $i_{RI} \leq -160 \pm 30$

Table 2

Results of the library search for compound «X» ($MW = 238$ Da) structural analogues in database [2] according to the condition $i_{RI} \leq -160 \pm 30$

Молекулярная масса, Да	Молекулярная формула	Значения RI, удовлетворяющие условию $i_{RI} \leq -160 \pm 30$	Структура соединения
210 ($M - 28$)	$C_{11}H_{14}O_4$	-	-
224 ($M - 14$)	$C_{12}H_{16}O_4$	1369* < (1540 – 100)	C-Acetyl sincarpic acid (CAS № 80597-50-7); среди ответов присутствует изобутирилфилициновая кислота (Xanthospermone, RI неизвестен, CAS № 22602-85-0)
252 ($M + 14$)	$C_{14}H_{20}O_4$	1538, 1546** < (1540 + 100)	 <p>(V) Flavesone (CAS № 22595-45-5)</p>
266 ($M + 28$)	$C_{15}H_{22}O_4$	1594 < (1540 + 200)	 <p>(VI) Leptospermone (CAS № 567-75-9)</p>

Примечания: * – значение RI отсутствует в базе [2] и приведено только на сайте NIST Chemistry WebBook, указанном в ссылке [2]; ** – два различных значения RI флавесона.

новые структуры, присутствие которых в образцах экстрактов волос маловероятно, были исключены из рассмотрения. Кроме того, во внимание не принимали значения RI, оцененные по аддитивной схеме [9], так как их неопределенность (доверительные интервалы, соответствующие доверительной вероятности 0.95) для структур типа циклогекса-1,3,5-трионов и их таутомерных форм (I – IV) слишком велика (до 380 ед. индекса).

Результаты выявления структурных аналогов соединения «X» приведены в табл. 2. Для аналогов с $M = 210$ Да в базе [2] не удалось обнаружить экспериментальных значений RI, удовлетворяющих условию $i_{RI} \leq -160 \pm 30$. Однако небезынтересно заметить, что среди обнаруженных структур фигурирует такая, как пропионилфилициновая кислота [содержит фрагмент C_2H_5 вместо C_4H_9 в структуре (II), $M = 210$ Да, CAS № 16296-99-4]. Среди аналогов с $M = 224$ Да обнаружены бутирилфилициновая [фрагмент C_3H_7 вместо C_4H_9 в структуре (II), $M = 224$ Да, CAS № 4133-77-1] и С-ацетилсинкарповая [4,4,6,6-тетрамethyl-2-ацетил-циклогексан-1,3,5-трион, $M = 224$ Да, CAS № 80597-59-7] кислоты. Все они характеризуются сходными с соединением «X» масс-спектрометрическими признаками, а для С-ацетилсинкарповой кислоты на сайте NIST [2] кроме того удается найти значение индекса удерживания (RI 1369), соответствующее условию $i_{RI} \leq -160 \pm 30$.

И, наконец, к самым информативным результатам приводит выявление структурных аналогов соединения «X» с молекулярными массами превышающими 238 Да. В случае $M = 252$ Да ответом, удовлетворяющим условию $i_{RI} \leq -160 \pm 30$, оказывается структура 4,4,6,6-тетрамethyl-2-изобутирилциклогексан-1,3,5-триона (тривиальное название «Флавесон», CAS № 22595-45-5, V), а для $M = 266$ Да – 4,4,6,6-тетрамethyl-2-изопентаноилциклогексан-1,3,5-триона (тривиальное название «Лептоспермон», CAS № 567-75-9, VI). Масс-спектры этих β-трикетонных приведены на рис. 2. Кроме этого есть данные для 4,4,6,6-тетрамethyl-2-(2-метилбутирил)-циклогексан-1,3,5-триона (тривиальное название «Изолептоспермон», CAS № 5009-05-2), однако для него неизвестно экспериментальное значение RI. Примечательно, что масс-спектры всех перечисленных соединений содержат наборы пиков с такими же значениями m/z , что и масс-спектр соединения «X» (с учетом различий их молекулярных масс), а именно 252, 237, 209, 182, 139 (флавесон), 266, 251, 223, 196 (лептоспермон), и 266, 251, 233, 209, 196 (изолептоспермон) Да (рис. 2). Следовательно, эти соединения, так же как и целевой аналит «X», относятся к одному и тому же структурному типу органических соединений, а именно 2-ацил-циклогексан-1,3,5-трионам, причем вариации структуры затрагивают только алкильный фрагмент заместителя $C_nH_{2n+1}CO$. Если так, то учитывая положение

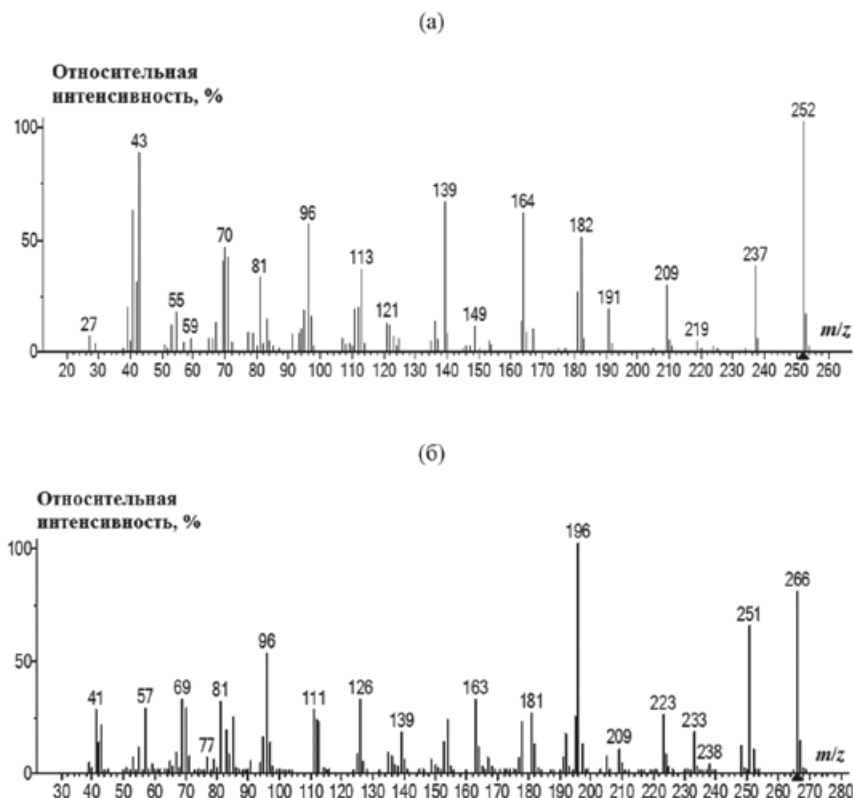


Рис. 2. Масс-спектры флавесона (а) и лептоспермона (б) [2].

Fig. 2. Mass spectra of flavesone (a) and leptospermone (b) [2].

в группе родственных трикетонов, соединение «X» можно назвать С-пропионилсинкарповой кислотой, деметилфлавесоном, норфлавесоном или пропионилфлавесоном. Структуры таутомеров соединения «X» приведены на схеме 2.

Если непосредственное сравнение экспериментального масс-спектра ИЭ соединения «X» со справочными данными исключено из-за отсутствия таких данных, то нельзя обойти вниманием возможность подтверждения его принадлежности к тому или иному гомологическому ряду в результате сравнения спектров ионных серий. Такие спектры представляют собой совокупности 14 чисел I_y ($0 \leq y \leq 13$), каждое из которых равно суммарной интенсивности (в суммарном ионном токе, $\Sigma I_y = 100\%$) всех сигналов обычных масс-спектров, относящихся к одной и той же гомологической группе у. Алгоритмы вычисления и способы использования спектров ионных серий подробно рассмотрены в

руководстве [8]. Такой спектр соединения «X» имеет следующий вид:

$$I_y (0 \leq y \leq 13): 24, 5, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 2, 3, 7, 8, 51$$

Сравнение этого спектра ионных серий с аналогичным спектром, например, валерилфилициновой кислоты (Схема 1) свидетельствует об их значительном сходстве:

$$I_y (0 \leq y \leq 13): 32, 12, 1, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 4, 3, 8, 1, 39$$

Значение суммы модулей разностей составляющих спектра ионных серий $\Sigma |I_y(1) - I_y(2)|$ равно 38, что допустимо для соединений, относящихся к одним и тем же гомологическим рядам (меньше 40) [8]. Это является дополнительным подтверждением возможности отнесения неизвестного соединения «X» к ряду циклических ацилтрикарбонильных соединений.

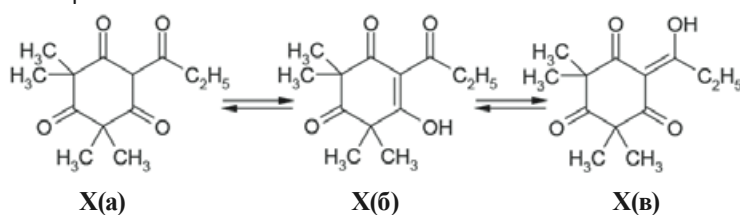
Таким образом, характеризующему соединению «X» может быть приписана структура 2,2,4,4-тетраметил-6-пропионилциклогексан-1,3,5-триона

Схема 2

Структуры таутомеров соединения «X»

Scheme 2

Structures of tautomers of compound «X»



X(a). Такое соединение может существовать в виде трех таутомерных форм, основными из которых представляются две: собственно β -трикетон **X(a)** и его енольная форма – 5-гидрокси-2,2,6,6-тетраметил-4-пропионилциклогекс-4-ен-1,3-дион **X(b)**. Интересно, что эта енольная структура отсутствует в базе [2], однако представлена на соответствующем сайте (NIST Chemistry WebBook), причем для нее известен CAS № 87552-01-0 и индекс удерживания (RI 1464), но нет масс-спектра. Это соединение зарегистрировано в Human Metabolome Database (HMDB), регистрационный номер ID0033191, для него определена растворимость в воде (69 мг/100 мл при нормальных условиях) и значение константы кислотности (pK_a 3.59). Оно обнаружено в составе эфирного масла такого растения как *Leptospermum scoparium* (основной ареал произрастания Австралия и Новая Зеландия) и входит в состав красного чая на его основе. Наиболее распространенным применением флавесона и его аналогов, к которым относится обсуждаемое соединение «X», является их использование в качестве компонентов кондиционеров для волос и кожи головы [12, 13] (см. также сайт perflavory.com/docs/doc1567781.html).

С учетом указанных областей применения природных эфирных масел, содержащих флавесон и его аналоги, не удивительно, что это соединение было обнаружено именно в экстракте волос. Скорее всего, волосы были подвергнуты обработке препаратами, содержащими эфирные масла соответствующих растений. Результатом изложенной выше достаточно сложной процедуры интерпретации данных стал вывод, что рассматриваемый компонент образца не относится к сильнодействующим или токсичным соединениям, а принадлежит к достаточно «экзотическому» классу природных соединений – циклическим β -трикетонам. Такой результат, в сочетании с другими данными, позволяет исключить криминальное происхождение эксгумированных человеческих останков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, несмотря на отсутствие информации в базе [2] и невозможность опознания неизвестного соединения в результате стандартного библиотечного поиска, использование доступных сведений о его аналогах позволяет приписать ему определенную структуру. Кроме того, представляется важным специально прокомментировать некоторые принципиальные моменты решения этой задачи.

Во-первых, несмотря на заметное число известных структурных аналогов ряда 2-ацил-циклогексан-1,3,5-трионов, часть из которых обладает похожими масс-спектрами, они не попадают в результаты обычного библиотечного поиска при сравнении масс-спектра неизвестного соединения и справочных данных, хотя их сходство во многих случаях относительно легко обнаруживается «на глаз». Следовательно, не все используемые в на-

стоящее время признаки совпадения масс-спектров приводят к их отождествлению при использовании компьютерных алгоритмов.

Второй момент касается не слишком удовлетворительного совпадения экспериментального газохроматографического индекса удерживания идентифицируемого соединения (~1540) и единственного доступного справочного значения, приведенного на сайте [2] (1464). Здесь следует принять во внимание два фактора. Прежде всего, единичные справочные значения RI не дополнены стандартными отклонениями, характеризующими их межлабораторную воспроизводимость, которая, таким образом, остается неопределенной. Кроме того, рассматриваемое соединение может существовать в виде двух таутомеров (Схема 2), но, как отмечено в работе [14], такие таутомеры даже в простейших случаях (например, этилацетоацетат) достаточно устойчивы для их газохроматографического разделения и имеют разные индексы удерживания. Следовательно, нельзя исключать возможность газохроматографического разделения таутомеров 2,2,4,4-тетраметил-6-пропионил-1,3,5-циклогексантриона. Если же разные образцы содержат разные таутомеры, а скорость их взаимного превращения невелика, то это представляется весьма вероятной причиной заметных различий в значениях их индексов удерживания. Такое предположение подтверждается заметными различиями в индексах удерживания аггломерона (1669 и 1729) и еще одного соединения с тривиальным названием «тасманон» с молекулярной массой 252 Да и (1754 и 1698), относящегося к этой же группе β -трикетонов. Более того, масс-спектры кето- и енольных форм таутомеров также несколько различаются [14], что обуславливает дополнительные сложности их идентификации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вершинин В.И., Дерендяев Б.Г., Лебедев К.С. Компьютерная идентификация органических соединений. М.: Наука, 2002, 182 с.
2. NIST 20 (2020) Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2020 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, May 2020. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (дата обращения: ноябрь 2020 г.).
3. Zenkevich I.G. Prevention of a dangerous tendency in the presentation of the results of GC-MS identification // Anal. Bioanal. Chem. 2013. V. 405. P. 3075-3083.
4. Зенкевич И.Г. Нетрадиционные критерии хроматографической и хромато-масс-спектрометрической идентификации органических соединений // Журн. аналит. химии. 1998. Т. 53, № 8. С. 828-835.
5. Зенкевич И.Г. New algorithm of joint GC-MS library search based on differential single-dimensional analytical parameters // Proc. of the IX International MS Conf. "Petro-mass 2011". М.: 2011. 162 p. P. 119-127.
6. Зенкевич И.Г. Особенности использования дифференциальных характеристик органических соединений для

их групповой идентификации // Журн. общей химии. 2017. Т. 87, Вып. 4. С. 665-676.

7. Zenkevich I.G., Ulyanov A.V., Golub S.L., Buriak A.K. Хроматографическая составляющая идентификации продуктов превращений 1,1-диметилгидразина в присутствии серы // Журн. общей химии. 2014. Т. 84, Вып. 6. С. 923-931.
8. Zenkevich I.G., Ioiffe B.V. Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия, 1986. 176 с.
9. Stein S.E., Babushok V.I., Brown R.L., Linstrom P.J. Estimation of Kovats retention indices using group contributions // J. Chem. Inf. Model. 2007. V. 47. P. 975-980.
10. Brophy J.J., Goldsack R.J., Forster P.I., Clarkson J.R., Fookes C.J.R. Mass spectra of some triketones from *Australian Myrtaceae* // JEOR. 1996. V. 8, № 4. P. 465-470.
11. Елисеенков Е.В., Zenkevich I.G. Хроматомасс-спектрометрическая характеристика замещенных 1,3-диоксоланов и 1,3-диоксанов // Масс-спектрометрия. 2020. Т. 17, № 1. С. 40-56.
12. Essential oils from New Zealand manuka: triketone and other chemotypes of *Leptospermum scoparium* M.H. Douglas [et al.] // Phytochemistry. 2004. V. 65, № 9. P. 1255-1264.
13. Chalchat J.-C., Figueredo G., Ozxan M.M., Unver A. Effect of hydrodistillation and microwave distillation extraction methods on chemical composition of essential oil of pickling herb and myrtle plants // South Western J. Agricult. 2010. V. 1-2. P. 133-141.
14. Zenkevich I.G., Лукина В.М. Особенности газохроматографического разделения таутомеров этилацетата // Журн. физич. химии. 2020. Т. 94, № 6. С. 910-919.

REFERENCES

1. Vershinin V.I., Derendiaev B.G., Lebedev K.S. [Komp'uternaia identifikatsiia organicheskikh soedinenii] Computer identification of organic compounds. Moscow: Nauka Publ., 2002, 182 p. (In Russian).
2. NIST 20 (2020) Mass Spectral Library (NIST/EPA/NIH EI MS Library, 2020 Release). Software/Data Version; NIST Standard Reference Database, Number 69, May 2020. National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD 20899: <http://webbook.nist.gov> (Accessed: November 2020).
3. Zenkevich I.G. Prevention of a dangerous tendency in the presentation of the results of GC-MS identification. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2013, vol. 405, pp. 3075-3083. doi: 10.1007/s00216-013-6751-2.
4. Zenkevich I.G. Non-traditional criteria for the identification of organic compounds by chromatography and chromatography – mass spectrometry. *J. Anal. Chem. (Rus.)*, 1998, vol. 53, no. 8, pp. 725-731.
5. Zenkevich I.G. New algorithm of joint GC-MS library search based on differential single-dimensional analytical parameters. *Proc. of the IX International MS Conf. "Petro-mass 2011"*. Moscow: 2011, 162 p, pp. 119-127.
6. Zenkevich I.G. Specificities of using differential characteristics of organic compounds for their group identification. *Rus. J. General Chem.*, 2017, vol. 87, no. 4, pp. 795-804. doi: 10.1134/S1070363217040211.
7. Zenkevich I.G., Ulianov A.V., Golub S.L., Buriak A.K. Chromatographic component of identification of the transformation products of 1,1-dimethylhydrazine in the presence of sulfur. *Rus. J. General Chem.*, 2014, vol. 84, no. 6, pp. 1102-1110. doi: 10.1134/S1070363214060097.
8. Zenkevich I.G., Ioffe B.V. *Interpretatsia mass-spektrov organicheskikh soedinenii* [Interpretation of mass spectra of organic compounds]. Leningrad: Khimia Publ., 1986, 176 p. (In Russian).
9. Stein S.E., Babushok V.I., Brown R.L., Linstrom P.J. Estimation of Kovats retention indices using group contributions. *J. Chem. Inf. Model.*, 2007, vol. 47, pp. 975-980. doi: 10.1021/ci600548y.
10. Brophy J.J., Goldsack R.J., Forster P.I., Clarkson J.R., Fookes C.J.R. Mass spectra of some triketones from *Australian Myrtaceae*. *JEOR*, 1996, vol. 8, no. 4, pp. 465-470. doi: 10.1080/10412905.1996.9700668.
11. Eliseenkov E.V., Zenkevich I.G. Characterization of substituted 1,3-dioxolanes and 1,3-dioxanes by gas chromatography – mass spectrometry. *J. Anal. Chem. (Rus.)*, 2020, vol. 75, no. 14, pp. 1790-1807. doi: 10.1134/S1061934820140087.
12. Douglas M.H., van Klink J.W., Smallfield B.M., Perry N.B., Anderson R.E., Johnstone P., Weavers R.T. Essential oils from New Zealand manuka: triketone and other chemotypes of *Leptospermum scoparium*. *Phytochemistry*, 2004, vol. 65, no. 9, pp. 1255-1264. doi: 10.1016/j.phytochem.2004.03.019.
13. Chalchat J.-C., Figueredo G., Ozxan M.M., Unver A. Effect of hydrodistillation and microwave distillation extraction methods on chemical composition of essential oil of pickling herb and myrtle plants. *South Western J. Agricult.*, 2010, vol. 1-2, pp. 133-141. doi: 10.1590/S0103-50532006000300019.
14. Zenkevich I.G., Lukina V.M. Characteristic features of the gas chromatographic separation of tautomers of ethyl acetate. *Rus. J. Phys. Chem. A*, 2020, vol. 94, no. 6, pp. 1214-1223. doi: 10.1134/S0036024420060357.